FLEX
Monoclonal Mouse
Anti-Human CD10
Clone 56C6
Ready-to-Use
(Dako Autostainer/Autostainer Plus)

Code IS648

ENGLISH

Intended use

For in vitro diagnostic use.
FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD10, Clone 56C6, Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus), is intended for use in immunohistochemistry together with Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments. This antibody is useful for the identification of Burkitt lymphoma (1, 2), follicular lymphoma (1, 3, 4) except grade III (5), precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia (1, 2), renal carcinoma - clear cell type (6, 7). The clinical interpretation of any staining or its absence should be complemented by morphological studies using proper controls and should be evaluated within the context of the patient's clinical history and other diagnostic tests by a qualified pathologist.

Synonyms for antigen

Common acute lymphocytic leukemia antigen (CALLA), neutral endopeptidase, enkephalinase, neprilysin (7-9).

Summary and explanation

CD10 is a 90-100 kDa protein belonging to a family of type II transmembrane metalloproteases that also includes the leucocytes antigens CD13 and CD26 and aminopeptidase A. The gene encoding CD10 is located on chromosome 3. CD10 is a zinc-dependent enzyme and is thought to down-regulate cellular responses to peptide hormones (8, 9). On lymphoid cells, CD10 is expressed on immature T and B precursor cells but is lost as the cells reach maturation. CD10 is, however, re-expressed on proliferating B cells and mature neutrophils (8-10). In lymphoid malignancies, CD10 is expressed in acute lymphoblastic leukemia (ALL) arising from precursor B cells, but is also observed in a portion of T-cell ALL (1, 2). Additionally, the antigen may also be expressed in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) (1, 10) and infrequently in mantle cell lymphoma (3).

Refer to Dako's *General Instructions for Immunohistochemical Staining* or the detection system instructions of IHC procedures for: 1) Principle of Procedure, 2) Materials Required, Not Supplied, 3) Storage, 4) Specimen Preparation, 5) Staining Procedure, 6) Quality Control, 7) Troubleshooting, 8) Interpretation of Staining, 9) General Limitations.

Reagent provided

Ready-to-use monoclonal mouse antibody provided in liquid form in a buffer containing stabilizing protein and 0.015 mol/L sodium azide.
Clone: 56C6. Isotype: IgG1.

Immunogen

Recombinant fusion protein corresponding to the external domain of the CD10 glycoprotein.

Specificity

In Western blotting of placental cell lysate, the antibody labels a 93 kDa band corresponding to CD10 (11).

Precautions

1. For professional users.
2. This product contains sodium azide (NaN_3), a chemical highly toxic in pure form. At product concentrations, though not classified as hazardous, sodium azide may react with lead and copper plumbing to form highly explosive build-ups of metal azides. Upon disposal, flush with large volumes of water to prevent metal azide build-up in plumbing.
3. As with any product derived from biological sources, proper handling procedures should be used.
4. Wear appropriate Personal Protective Equipment to avoid contact with eyes and skin.
5. Unused solution should be disposed of according to local, State and Federal regulations.

Storage

Store at 2-8 ℃. Do not use after expiration date stamped on vial. If reagents are stored under any conditions other than those specified, the conditions must be verified by the user. There are no obvious signs to indicate instability of this product. Therefore, positive and negative controls should be run simultaneously with patient specimens. If unexpected staining is observed which cannot be explained by variations in laboratory procedures and a problem with the antibody is suspected, contact Dako Technical Support.

Specimen preparation including materials required but not supplied

The antibody can be used for labeling formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections. Tissue specimens should be cut into sections of approximately 4 µm.

Pre-treatment with heat-induced epitope retrieval (HIER) is required using Dako PT Link (Code PT100/PT101). For details, please refer to the PT Link User Guide. Optimal results are obtained by pretreating tissues using EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8010/K8004).

Paraffin-embedded sections: Pre-treatment of formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using the 3-in-1 specimen preparation procedure for Dako PT Link. Follow the pre-treatment procedure outlined in the package insert for EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code K8010/K8004). Note: After staining the sections must be dehydrated, cleared and mounted using permanent mounting medium.

Deparaffinized sections: Pre-treatment of deparaffinized formalin-fixed, paraffin-embedded tissue sections is recommended using Dako PT Link and following the same procedure as described for paraffin-embedded sections. After staining the slides should be mounted using aqueous or permanent mounting medium.

The tissue sections should not dry out during the treatment or during the following immunohistochemical staining procedure. For greater adherence of tissue sections to glass slides, the use of FLEX IHC Microscope Slides (Code K8020) is recommended.

Staining procedure including materials required but not supplied

The recommended visualization system is EnVision™ FLEX, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8010). The staining steps and incubation times are pre-programmed into the software of Dako Autostainer/Autostainer Plus instruments, using the following protocols:

Template protocol: FLEXRTU2 (200 µL dispense volume) or FLEXRTU3 (300 µL dispense volume)

Autoprogram: CD10 (without counterstaining) or CD10H (with counterstaining)

The Auxiliary step should be set to "rinse buffer" in staining runs with ≤10 slides. For staining runs with >10 slides the Auxiliary step should be set to "none". This ascertains comparable wash times.

All incubation steps should be performed at room temperature. For details, please refer to the Operator's Manual for the dedicated instrument. If the protocols are not available on the used Dako Autostainer instrument, please contact Dako Technical Services.

Optimal conditions may vary depending on specimen and preparation methods, and should be determined by each individual laboratory. If the evaluating pathologist should desire a different staining intensity, a Dako Application Specialist/Technical Service Specialist can be contacted for information on re-programming of the protocol. Verify that the performance of the adjusted protocol is still valid by evaluating that the staining pattern is identical to the staining pattern described in "Performance characteristics".

Counterstaining in hematoxylin is recommended using EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code K8018). Non-aqueous, permanent mounting medium is recommended.

Positive and negative controls should be run simultaneously using the same protocol as the patient specimens. The positive control tissue should include liver and tonsil and the cells/structures should display reaction patterns as described for this tissue in "Performance characteristics" in all positive specimens. The recommended negative control reagent is FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code IS750).

Staining interpretation

Cells labeled by the antibody display membrane staining.

Performance characteristics

Normal tissues. In liver, bile canaliculi show a moderate to strong staining reaction. In tonsil, germinal center B cells show a weak to moderate staining reaction. The antibody labels stem cells in the bone marrow, a subset of immature B cells in bone marrow and neutrophils (8, 9, 11). The antibody also labels renal glomerular and tubular cells, germinal centers in lamina propria of colon, brush borders of the enterocytes in the small intestine, gallbladder brush border epithelium, interstitial stromal cells of the lung, Schwann nerve cells, interfascicular stromal cells in striated muscles, fibroblasts, syncitial trophoblasts and cytotrophoblasts of the placenta, prostate glandular epithelium and prostatic fluid, stromal cells in the endometrium and breast myoepithelial cells (6, 7, 9, 11).

Abnormal tissues: The antibody labeled 3/3 and 2/3 Burkitt lymphomas as well as 4/5 and 30/33 precursor B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) (1, 2). The antibody labeled 22/28, 12/15, 9/10 and 10/11 follicular lymphomas (1, 3, 4, 11) and 12/15 grade I follicular lymphomas, whereas in follicular lymphoma grade III none or weak expression was observed in 5/6 cases (5). In addition, the antibody labeled 41/46 renal cell carcinoma (6) and all metastatic renal clear cell carcinomas (7). Furthermore, precursor T- acute lymphoblastic leukemia (T-ALL) were labeled in 2/5 cases (6) and diffuse large B-cell lymphoma in 11/11 cases (10).

FRANÇAIS

Utilisation prévue

Pour utilisation lors d'un diagnostic in vitro.
FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD10, clone 56C6, Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus) est destiné à une utilisation en immunohistochimie avec les instruments Dako Autostainer/Autostainer Plus. Cet anticorps permet l'identification du lymphome de Burkitt (1, 2), du lymphome folliculaire (1, 3, 4) à l'exception de celui de grade III (5), de la leucémie lymphoblastique aiguë à précurseurs de lymphocytes B (1, 2) et du carcinome rénal de type à cellules claires (6, 7). L'interprétation clinique de toute coloration ou son absence doit être complétée par des études morphologiques en utilisant des contrôles appropriés et doit être évaluée en fonction des antécédents cliniques du patient et d'autres tests diagnostiques par un pathologiste qualifié.

Synonymes de l'antigène

Antigène commun de la leucémie lymphoblastique aiguë (CALLA), endopeptidase neutre, néprilysine, encéphaline (7–9).

Résumé et explication

Le CD10 est une protéine de 90 à 100 kDa, appartenant à la famille des métalloprotéases transmembranaires de type II qui comprend également les antigènes leucocytaires CD13 et CD26 et l'aminopeptidase A. Le gène codant le CD10 se trouve sur le chromosome 3. Le CD10 est une enzyme dont l'activité dépend du zinc et dont on pense qu'elle régule à la baisse les réponses cellulaires aux hormones peptidiques (8, 9). Sur les cellules lymphoïdes, le CD10 s'exprime sur les précurseurs immatures de lymphocytes B et T mais disparaît quand les cellules atteignent leur maturation. Toutefois, le CD10 s'exprime de nouveau sur les lymphocytes B prolifératifs et sur les neutrophiles matures (8–10). Dans les tumeurs lymphoïdes, le CD10 s'exprime dans la leucémie lymphoblastique aiguë (LLA) due aux précurseurs des lymphocytes B mais est également observé dans certaines LLA à lymphocytes T (1, 2). De plus, l'antigène peut aussi s'exprimer dans le lymphome diffus à grands lymphocytes B (DLBCL) (1, 10) et rarement dans les lymphomes du manteau (3).

Se référer aux *Instructions générales de coloration immunohistochimique* de Dako ou aux instructions du système de détection relatives aux procédures IHC pour plus d'informations concernant les points suivants : 1) Principe de procédure, 2) Matériels requis mais non fournis, 3) Conservation, 4) Préparation des échantillons, 5) Procédure de coloration, 6) Contrôle de qualité, 7) Dépannage, 8) Interprétation de la coloration, 9) Limites générales.

Réactifs fournis

Anticorps monoclonal de souris prêt à l'emploi, fourni sous forme liquide dans un tampon contenant une protéine stabilisante et 0,015 mol/L d'azide de sodium.
Clone : 56C6. Isotype : IgG1.

Immunogène

Protéine de fusion recombinante correspondant au domaine externe de la glycoprotéine CD10.

Spécificité

Dans le Western blot d'un lysat de cellules placentaires, l'anticorps marque une bande de 93 kDa correspondant au CD10 (11).

Précautions

1. Pour utilisateurs professionnels.
2. Ce produit contient de l'azide de sodium (NaN_3), produit chimique hautement toxique dans sa forme pure. Aux concentrations du produit, bien que non classé comme dangereux, l'azide de sodium peut réagir avec le cuivre et le plomb des canalisations et former des accumulations d'azides métalliques hautement explosifs. Lors de l'élimination, rincer abondamment à l'eau pour éviter toute accumulation d'azide métallique dans les canalisations.
3. Comme avec tout produit d'origine biologique, des procédures de manipulation appropriées doivent être respectées.
4. Porter un vêtement de protection approprié pour éviter le contact avec les yeux et la peau.
5. Les solutions non utilisées doivent être éliminées conformément aux réglementations locales et nationales.

Conservation

Conserver entre 2 et 8 °C. Ne pas utiliser après la date de péremption indiquée sur le flacon. Si les réactifs sont conservés dans des conditions autres que celles indiquées, celles-ci doivent être validées par l'utilisateur. Il n'y a aucun signe évident indiquant l'instabilité de ce produit. Par conséquent, des contrôles positifs et négatifs doivent être testés en même temps que les échantillons de patient. Si une coloration inattendue est observée, qui ne peut être expliquée par un changement des procédures du laboratoire, et en cas de suspicion d'un problème lié à l'anticorps, contacter l'assistance technique de Dako.

Préparation des échantillons y compris le matériel requis mais non fourni

L'anticorps peut être utilisé pour le marquage des coupes de tissus inclus en paraffine et fixés au formol. L'épaisseur des coupes d'échantillons de tissu doit être d'environ 4 µm.

Un prétraitement avec démasquage d'épitope induit par la chaleur (HIER) est nécessaire avec le Dako PT Link (Réf. PT100/PT101). Pour plus de détails, se référer au Guide d'utilisation du PT Link. Des résultats optimaux sont obtenus en prétraitant les tissus à l'aide de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Réf. K8010/K8004).

Coupes incluses en paraffine : le prétraitement des coupes tissulaires fixées au formol et incluses en paraffine est recommandé à l'aide de la procédure de préparation d'échantillon 3-en-un pour le Dako PT Link. Suivre la procédure de prétraitement indiquée dans la notice de la EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Réf. K8010/K8004). Remarque : après coloration, les coupes doivent être déshydratées, lavées et montées à l'aide d'un milieu de montage permanent.

Coupes déparaffinées : le prétraitement des coupes tissulaires déparaffinées, fixées au formol et incluses en paraffine, est recommandé à l'aide du Dako PT Link, en suivant la même procédure que pour les coupes incluses en paraffine. Après coloration, un montage aqueux ou permanent des lames est recommandé.

Les coupes de tissus ne doivent pas sécher lors du traitement ni lors de la procédure de coloration immunohistochimique suivante. Pour une meilleure adhérence des coupes de tissus sur les lames de verre, il est recommandé d'utiliser des lames FLEX IHC Microscope Slides (Réf. K8020).

Procédure de coloration y compris le matériel requis mais non fourni

Le système de visualisation recommandé est le EnVision™ FLEX, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. K8010). Les étapes de coloration et les temps d'incubation sont préprogrammés dans le logiciel des instruments Dako Autostainer/Autostainer Plus, à l'aide des protocoles suivants :

Protocole modèle : FLEXRTU2 (volume d'application de 200 µL) ou FLEXRTU3 (volume d'application de 300 µL). Programme automatique : CD10 (sans contre-coloration) ou CD10H (avec contre-coloration).

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

L'étape Auxiliary doit être réglée sur « rinse buffer » lors des cycles de coloration avec ≤10 lames. Pour les cycles de coloration de >10 lames, l'étape Auxiliary doit être réglée sur « none ». Cela confirme des temps de lavage comparables.

Toutes les étapes d'incubation doivent être effectuées à température ambiante. Pour plus de détails, se référer au Manuel de l'opérateur spécifique à l'instrument. Si les protocoles ne sont pas disponibles sur l'instrument Dako Autostainer utilisé, contacter le service technique de Dako.

Les conditions optimales peuvent varier en fonction du prélèvement et des méthodes de préparation, et doivent être déterminées par chaque laboratoire individuellement. Si le pathologiste qui réalise l'évaluation désire une intensité de coloration différente, un spécialiste d'application/spécialiste du service technique de Dako peut être contacté pour obtenir des informations sur la reprogrammation du protocole. Vérifier que l'exécution du protocole modifié est toujours valide en vérifiant que le schéma de coloration est identique au schéma de coloration décrit dans les « Caractéristiques de performance ».

Il est recommandé d'effectuer une contre-coloration à l'aide de EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. K8018). L'utilisation d'un milieu de montage permanent non aqueux est recommandée.

Des contrôles positifs et négatifs doivent être réalisés en même temps et avec le même protocole que les échantillons du patient. Le contrôle de tissu positif doit comprendre le foie et l'amygdale et les cellules/structures doivent présenter les schémas de réaction décrits pour ces tissus dans les « Caractéristiques de performance » pour tous les échantillons positifs. Le réactif de contrôle négatif recommandé est le FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Réf. IS750).

Interprétation de la coloration

Les cellules marquées par l'anticorps présentent une coloration membranaire.

Caractéristiques de performance

Tissus sains : dans le foie, les canaux biliaires présentent une coloration modérée à forte. Dans l'amygdale, les lymphocytes B du centre germinatif présentent une coloration faible à modérée. L'anticorps marque les cellules souches de la moelle osseuse, un sous-ensemble de lymphocytes B immatures de la moelle osseuse et les neutrophiles (8, 9, 11). L'anticorps marque aussi les cellules glomérulaires et tubulaires du rein, les centres germinatifs de la lamina propria du côlon, les microvillosités des entérocytes de l'intestin grêle, celles de l'épithélium de la vésicule biliaire, les cellules interstitielles du tissu conjonctif pulmonaire, les cellules de Schwann, les cellules des cloisons conjonctives inter-fasciculaires des muscles striés, les fibroblastes, les trophoblastes du syncitium et les cytotrophoblastes du placenta, l'épithélium glandulaire de la prostate et la sécrétion prostatique, les cellules du tissu conjonctif de l'endomètre et les cellules myoépithéliales du sein (6, 7, 9, 11).

Tissus tumoraux : l'anticorps a marqué 3 cas sur 3 et 2 cas sur 3 de lymphomes de Burkitt, ainsi que 4 cas sur 5 et 30 cas sur 33 de leucémie lymphoblastique aiguë à précurseurs de lymphocytes B (LLA-B) (1, 2). L'anticorps a marqué 22 cas sur 28, 12 cas sur 15, 9 cas sur 10 et 10 cas sur 11 de lymphome folliculaire (1, 3, 4, 11) et 12 cas sur 15 de lymphome folliculaire de grade I, tandis que dans les lymphomes folliculaires de grade III, le marquage n'était pas observé ou était faible dans 5 cas sur 6 (5). De plus, l'anticorps a marqué 41 cas sur 46 de carcinome des cellules rénales (6), et tous les carcinomes métastatiques du rein à cellules claires (7). En outre, la leucémie lymphoblastique aiguë à précurseurs de lymphocytes T (LLA-T) était marquée dans 2 cas sur 5 (6) et le lymphome diffus à grandes cellules B dans 11 cas sur 11 (10).

DEUTSCH

Verwendungszweck

Zur In-vitro-Diagnostik.

FLEX Monoclonal Mouse Anti-Human CD10, Klon 56C6, Ready-to-Use (Dako Autostainer/Autostainer Plus) ist zur Verwendung in der Immunhistochemie in Verbindung mit Dako Autostainer/Autostainer Plus-Geräten bestimmt. Dieser Antikörper dient zur Identifikation von Burkitt-Lymphomen (1, 2), follikulären Lymphomen (1, 3, 4) außer Grad III (5), Vorläufer-B-Zellen der akuten lymphoblastischen Leukämie (1, 2) und Nierenkarzinomen vom Klarzellentyp (6, 7). Die klinische Auswertung einer eventuell eintretenden Färbung sollte durch morphologische Studien mit geeigneten Kontrollen ergänzt werden und von einem qualifizierten Pathologen unter Berücksichtigung der Krankengeschichte und anderer diagnostischer Tests des Patienten vorgenommen werden.

Synonyme für das Antigen

Akutes lymphoblastisches Leukämie-Antigen (CALLA), neutrale Endopeptidase, Enkephalinase, Neprilysin (7–9).

Zusammenfassung und Erklärung

CD10 ist ein zur Familie der Typ-II-Transmembran-Metalloproteasen gehörendes Protein mit 90–100 kDa. Dazu gehören auch die Leukozytenantigene CD13 und CD26 und Aminopeptidase A. Das CD10 kodierende Gen befindet sich auf dem Chromosom 3. CD10 ist ein von Zink abhängiges Enzym und es wird allgemein angenommen, dass es die zellulären Reaktionen auf Peptid-Hormone nach unten reguliert (8, 9). Auf lymphoiden Zellen wird CD10 auf unreifen T- und B-Vorläuferzellen exprimiert, geht aber verloren, sobald die Zellen ausreifen. CD10 wird jedoch auf proliferierenden B-Zellen und reifen Neutrophilen wieder exprimiert (8–10). In lymphoiden Malignitäten wird CD10 bei akuter lymphoblastischer Leukämie (ALL) von Vorläufer-B-Zellen exprimiert, wird aber auch in einem Teil von T-Zell-ALL beobachtet (1, 2). Darüber hinaus kann das Antigen auch in diffusen Groß-B-Zell-Lymphomen (DLBLC) (1, 10) und selten in Mantelzell-Lymphomen (3) exprimiert werden.

Folgende Angaben bitte den *Allgemeinen Richtlinien zur immunhistochemischen Färbung* von Dako oder den Anweisungen des Detektionssystems für IHC-Verfahren entnehmen: 1) Verfahrensprinzip, 2) Erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien, 3) Aufbewahrung, 4) Vorbereitung der Probe, 5) Färbeverfahren, 6) Qualitätskontrolle, 7) Fehlersuche und -behebung, 8) Auswertung der Färbung, 9) Allgemeine Beschränkungen.

Geliefertes Reagenz

Gebrauchsfertiger, monoklonaler Maus-Antikörper in flüssiger Form in einem Puffer, der stabilisierendes Protein und 0,015 mol/L Natriumazid enthält.

Klone: 56C6. Isotyp: IgG1.

Immunogen

Rekombinantes Fusionsprotein, der externen Domäne des CD10-Glykoproteins entsprechend.

Spezifität

Beim Western Blotting von Plazenta-Zelllysat markiert der Antikörper eine Bande von 93 kDa, die CD10 entspricht (11).

Vorsichtsmaßnahmen

1. Nur für Fachpersonal bestimmt.
2. Dieses Produkt enthält Natriumazid (NaN_3), eine in reiner Form äußerst giftige Chemikalie. Natriumazid kann auch in als ungefährlich eingestuften Konzentrationen mit Blei- und Kupferrohren reagieren und hochexplosive Metallazide bilden. Nach der Entsorgung stets mit viel Wasser nachspülen, um Metallazidansammlungen in den Leitungen vorzubeugen.
3. Wie alle Produkte biologischen Ursprungs müssen auch diese entsprechend gehandhabt werden.
4. Geeignete Schutzkleidung tragen, um Augen- und Hautkontakt zu vermeiden.
5. Nicht verwendete Lösung ist entsprechend örtlichen, bundesstaatlichen und staatlichen Richtlinien zu entsorgen.

Lagerung

Bei 2–8 ℃ aufbewahren. Nach Ablauf des auf dem Fläsch chen aufgedruckten Verfalldatums nicht mehr verwenden. Werden die Reagenzien unter anderen als den angegebenen Bedingungen aufbewahrt, müssen diese Bedingungen vom Benutzer validiert werden. Es gibt keine offensichtlichen Anzeichen für eine eventuelle Produktinstabilität. Positiv- und Negativkontrollen sollten daher zur gleichen Zeit wie die Patientenproben getestet werden. Falls es zu einer unerwarteten Färbung kommt, die sich nicht durch Unterschiede bei Laborverfahren erklären lässt und auf ein Problem mit dem Antikörper hindeutet, ist der technische Kundendienst von Dako zu verständigen.

Vorbereitung der Probe und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Der Antikörper eignet sich zur Markierung von formalinfixierten und paraffineingebetteten Gewebeschnitten. Gewebeproben sollten in Schnitte von ca. 4 µm Stärke geschnitten werden.

Die Vorbehandlung durch hitzeinduzierte Epitopdemaskierung (HIER) mit Dako PT Link (Code-Nr. PT100/PT101) ist erforderlich. Weitere Informationen hierzu siehe PT Link-Benutzerhandbuch. Optimale Ergebnisse können durch Vorbehandlung der Gewebe mit EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8010/K8004) erzielt werden.

Paraffineingebettete Schnitte: Die Vorbehandlung der formalinfixierten, paraffineingebetteten Schnitte mit dem 3-in-1-Probenvorbereitungsverfahren für Dako PT Link wird empfohlen. Vorbehandlung gemäß der Beschreibung in der Packungsbeilage für EnVision™ FLEX Target Retrieval Solution, High pH (50x) (Code-Nr. K8010/K8004) durchführen. Hinweis: Nach dem Färben müssen die Schnitte dehydriert, geklärt und mit permanentem Einbettmedium auf den Objektträger aufgebracht werden.

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17

Entparaffinierte Schnitte: Eine Vorbehandlung der entparaffinierten, formalinfixierten, paraffineingebetteten Gewebeschnitte mit Dako PT Link nach demselben Verfahren, wie für die paraffineingebetteten Schnitte beschrieben, wird empfohlen. Die Objektträger nach dem Färben mit einem wässrigen oder permanenten Einbettmedium bedecken.

Die Gewebeschnitte dürfen während der Behandlung oder des anschließenden immunhistochemischen Färbeverfahrens nicht austrocknen. Zur besseren Haftung der Gewebeschnitte an den Glasobjektträgern wird die Verwendung von FLEX IHC Microscope Slides (Code-Nr. K8020) empfohlen.

Färbeverfahren und erforderliche, aber nicht mitgelieferte Materialien

Das empfohlene Visualisierungssystem ist EnVision™ FLEX, High pH, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8010). Die Färbeschritte und Inkubationszeiten sind in der Autostainer Link-Software vorprogrammiert. Die Färbeschritte und Inkubationszeiten sind in der Software der Dako Autostainer/Autostainer Plus-Geräte mit den folgenden Protokollen vorprogrammiert:

Matrix-Protokoll: FLEXRTU2 (200 µL Abgabevolumen) oder FLEXRTU3 (300 µL Abgabevolumen)

Autoprogram: CD10 (ohne Gegenfärbung) oder CD10H (mit Gegenfärbung)

Bei Färbedurchläufen mit höchstens 10 Objektträgern sollte der „Zusatz"-Schritt auf „Pufferspülgang" eingestellt werden. Für Färbedurchläufe mit mehr als 10 Objektträgern den „Zusatz"-Schritt auf „Keine" einstellen. Dieses gewährleistet vergleichbare Waschzeiten.

Alle Inkubationsschritte sollten bei Raumtemperatur durchgeführt werden. Nähere Einzelheiten bitte dem Benutzerhandbuch für das jeweilige Gerät entnehmen. Wenn die Färbeprotokolle auf dem verwendeten Dako Autostainer-Gerät nicht verfügbar sind, bitte den Technischen Kundendienst von Dako verständigen.

Optimale Bedingungen können je nach Probe und Präparationsverfahren unterschiedlich sein und sollten vom jeweiligen Labor selbst ermittelt werden. Falls der beurteilende Pathologe eine andere Färbungsintensität wünscht, kann ein Anwendungsspezialist oder Kundendiensttechniker von Dako bei der Neuprogrammierung des Protokolls helfen. Die Leistung des angepassten Protokolls muss verifiziert werden, indem gewährleistet wird, dass das Färbemuster mit dem unter „Leistungsmerkmale" beschriebenen Färbemuster identisch ist.

Die Gegenfärbung in Hämatoxylin sollte mit EnVision™ FLEX Hematoxylin, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. K8018) ausgeführt werden. Empfohlen wird ein nichtwässriges, permanentes Fixiermittel.

Positiv- und Negativkontrollen sollten zur gleichen Zeit und mit demselben Protokoll wie die Patientenproben getestet werden. Das positive Kontrollgewebe sollte Leber- und Mandelgewebe enthalten, und die Zellen/Strukturen müssen in allen positiven Proben die für dieses Gewebe unter „Leistungsmerkmale" beschriebenen Reaktionsmuster aufweisen. Das empfohlene Negativ-Kontrollreagenz ist FLEX Negative Control, Mouse, (Dako Autostainer/Autostainer Plus) (Code-Nr. IS750).

Auswertung der Färbung

Mit diesem Antikörper markierte Zellen weisen eine Membranfärbung auf.

Leistungsmerkmale

Gesundes Gewebe: Die Lebergallenkanälchen weisen eine mäßige bis starke Färbereaktion auf. Im Mandelgewebe zeigen die B-Zellen des Keimzentrums eine schwache bis mäßige Färbereaktion. Der Antikörper markiert Stammzellen im Knochenmark, eine Untergruppe unreifer B-Zellen im Knochenmark und Neutrophile (8, 9, 11). Der Antikörper markiert auch glomeruläre und tubuläre Zellen der Niere, Keimzentren in der Lamina propria des Dickdarms, Bürstensäume der Enterozyten des Dünndarms, Bürstensaumepithel der Gallenblase, interstitielle Stromazellen der Lunge, Schwann-Nervenzellen, interfaszikuläre Stromazellen in gestreiftem Muskel, Fibroblasten, Syncitial-Trophoblasten und Zytotrophoblasten der Plazenta, Drüsenepithelzellen der Prostata und Prostatasekret, Stromazellen des Endometriums und myoepitheliale Zellen der Brust (6, 7, 9, 11).

Pathologisches Gewebe: Der Antikörper markierte 3 von 3 Fällen und 2 von 3 Fällen von Burkitt-Lymphomen sowie 4 von 5 und 30 von 33 Fällen von Vorläufer-B-Zellen der akuten lymphoblastischen Leukämie (B-ALL) (1, 2). Der Antikörper markierte 22 von 28, 12 von 15, 9 von 10 und 10 von 11 follikulären Lymphomen (1, 3, 4, 11) und 12 von 15 follikulären Grad-I-Lymphomen, dagegen wurde bei follikulären Grad-III-Lymphomen in 5 von 6 Fällen keine oder schwache Expression zeigte (5). Außerdem markierte der Antikörper 41 von 46 Nierenkarzinomen (6) und alle metastatischen Klarzellen-Nierenkarzinome (7). Zusätzlich wurden Vorläufer-T-Zellen von akuter lymphoblastischer Leukämie (T-ALL) in 2 von 5 Fällen markiert (6) und diffuse Groß-B-Zelllymphome in 11 von 11 Fällen (10).

References/ Références/ Literatur

1. Kaufamann O, Flath B, Späth-Swalbe, Possinger K and Dietel M. Immunohistochemical detection of CD10 with monoclonal antibody 56C6 on paraffin sections. Am J Clin Pathol 1999;11:117-22.
2. Chu PG, Chang KL, Weiss LM and Arber DA. Immunohistochemical detection of CD10 in paraffin sections of hematopoietic neoplasms. App Imm & Mol Morphol. 2000;8:257-62.
3. Chen CC, Raikow RB, Sonmez-Alpan E and Swerdlow S. Classification of small B-cell lymphoid neoplasms using a paraffin section immunohistochemical panel. App Imm & Mol Morphol 2000;8:1-11.
4. Lorsbach RB, Shay-Seymore D, Moore J, Banks PM, Hasserjian RP, Sandlund JT and Behm FG. Clinicopathologic analysis of follicular lymphoma occurring in children. Blood 2002;99:1959-64.
5. Eshoa C, Perkins S, Kampalath B, Shidham, Juckett M, and Chang C-C. Deceased CD10 expression in grade III and in interfollicular infiltrates of follicular lymphomas. Am J Clin Pathol 2001;115:862-7.
6. Chu P and Arber DA. Paraffin section detection of CD10 in 505 nonhematopoietic neoplasms. Frequent expression in renal cell carcinoma and endometrial stromal sarcoma. Am J Clin Patholl 2000;113:374-82.
7. Ordi J, Romagosa C, Tavassoli FA, Nogales F, Palacin A, Condom E, et al. CD10 expression in epithelial tissue and tumors of the gynecologic tract. A useful marker in the diagnosis of mesonephric, trophoblastic, and clear cell tumors. Am J Surg Pathol 2003;27:178-86.
8. Béné MC, Faure GC and the GEIL (Group D'Etude Immunologique des Luecémies). CD10 in acute leukemias.. Haematologica 1997;82:205-10.
9. Leong AS-Y, Cooper K and Leong FJW-M. CD10. Manual of diagnostic antibodies for immunohistology. London: Greenwich medical media; 2003. p. 77-78.
10. Le Gouill S, Talmant P, Touzeau C, Moreau A, Garand R, Juge-Morineau N, et al. The clinical presentation and prognosis of diffuse large B-cell lymphoma with t(14:18) and 8q24/c-MYC rearrangement. The hematology journal 2007;92:1335-42.
11. McIntosh GG, Lodge AJ, Watson P, Hall AG, Wood K, Anderson JJ et al. NCL-CD10-270: A new monoclonal antibody recognizing CD10 in paraffin-embedded tissue. Am J Pathol 1999;154:77-82.

Explanation of symbols/ Explication des symboles/ Erläuterung der Symbole

REF Catalogue number Référence catalogue Bestellnummer	2 °C 8 °C Temperature limitation Limites de température Zulässiger Temperaturbereich	Use by Utiliser avant Verwendbar bis
IVD In vitro diagnostic medical device Dispositif médical de diagnostic in vitro In-vitro-Diagnostikum	Σ Contains sufficient for <n> tests Contenu suffisant pour <n> tests Inhalt ausreichend für <n> Tests	Manufacturer Fabricant Hersteller
Consult instructions for use Voir les instructions d'utilisation Gebrauchsanweisung beachten	LOT Batch code Numéro de lot Chargenbezeichnung	

Dako Denmark A/S | Produktionsvej 42 | DK-2600 Glostrup | Denmark | Tel. +45 44 85 95 00 | Fax +45 44 85 95 95 | CVR No. 33 21 13 17